

Die gerinnungsphysiologische Bestimmung des Fibrinogens
im Vergleich mit der Biuretmethode

Wilfried Schwarz

Mainz 1975

Aus dem

Zentrallabor der Chirurgischen Universitätskliniken Mainz

Leiter: Prof. Dr. med. Langendorf

Die gerinnungsphysiologische Bestimmung des Fibrinogens
im Vergleich mit der Biuretmethode

Inauguraldissertation

zur Erlangung der Doktorwürde der Medizin
der Johannes Gutenberg-Universität Mainz,
den Medizinischen Fachbereichen

vorgelegt von

Wilfried Schwarz

aus Frankfurt am Main

Mainz 1975



Fachbereichsdekan: Prof. Dr. H. Langendorf

Referent: Prof. Dr. H. Langendorf

Korreferent: Prof. Dr. W. Ohler

Mein aufrichtiger Dank gilt Herrn Prof. Dr. med. Langendorf,
der die vorliegende Untersuchung angeregt und sie ständig
gefördert hat.

Desgleichen danke ich Herrn Prof. Dr. med. vet. Berger für
seine wertvolle Unterstützung bei der Interpretation der
statistischen Ergebnisse.

Inhaltsverzeichnis

	Seite
I) Einleitung	1
II) Methoden der Fibrinogenbestimmungen	3
III) Material und Methoden	12
IV) Ergebnisse	20
V) Diskussion	37
VI) Zusammenfassung	44
VII) Literaturverzeichnis	45
VIII) Anhang	51



Digitized by the Internet Archive
in 2026

I) Einleitung

Eine Gerinnungsstörung tritt auf, wenn einer der Gerinnungsfaktoren in zu niedriger Konzentration oder in biologisch inaktiver Form vorliegt. Die Ursache dafür liegt entweder in einer mangelhaften Bildung oder in einem überschüssigen Verbrauch des oder der betreffenden Faktoren.

Die diagnostischen Untersuchungen in einem Gerinnungslabor beginnen zweckmäßigerweise mit Untersuchungen, die ohne großen apparativen und zeitlichen Aufwand durchgeführt werden können. Hierzu gehören u. a. die Prothrombinzeit und die partielle Thromboplastinzeit.

Die Fibrinogenbestimmung war bisher den schwieriger zu bestimmenden und länger dauernden Untersuchungen zuzuordnen. Bisher benötigte man für die Ermittlung einer Fibrinogenkonzentration zumindest 30 - 40 min. Diese Zeit ist zur Feststellung einer eventuellen Hypofibrinogenämie bei einer Reihe von Erkrankungen zu lang. Erwähnt seien hier die mit akutem Fibrinogenverlust einhergehenden Erkrankungen aus dem gynäkologischen Formenkreis oder Schocksyndrome verschiedenster Genese. Bei solchen Krankheitsbildern sollte zur Untermauerung der Diagnose und zur Einleitung einer suffizienten Therapie in kurzer Zeit u. a. die Fibrinogenkonzentration bekannt sein.

Fibrinogenbestimmungen sind jedoch nicht nur in akuten

Notfällen indiziert. Eine sinnvolle differentialdiagnostische Ergänzung kann eine Fibrinogenbestimmung bei Verdacht auf okkulte Blutungen, zur Überprüfung von Leberfunktionsstörungen, Lebermalignomen bzw. Metastasenlebern, zum Nachweis aktiver rheumatischer Prozesse, zur Prüfung auf eine mangelhafte Abwehrlage des Organismus und zum Nachweis akuter oder chronischer Zellzerstörungen sein (23).

Mit Hilfe der üblichen Methoden der Fibrinogenbestimmung wäre das hämatologische Gerinnungslabor bei einer Ausweitung der Diagnostik auf die o. a. Indikationen bei weitem überfordert.

Die von Clauss 1957 entwickelte gerinnungsphysiologische Schnellmethode zur Bestimmung des Fibrinogens (2) wurde von den Firmen Boehringer Mannheim GmbH und Merz & Dade in einer modifizierten Form dem Handel angeboten. Diese Schnellreagentien wurden in den vorliegenden Untersuchungen auf ihre klinische Verwendbarkeit und praktische Anwendbarkeit auch in Bezug auf die erweiterte Indikationsstellung getestet und mit einer standardisierten Biuretmethode verglichen.

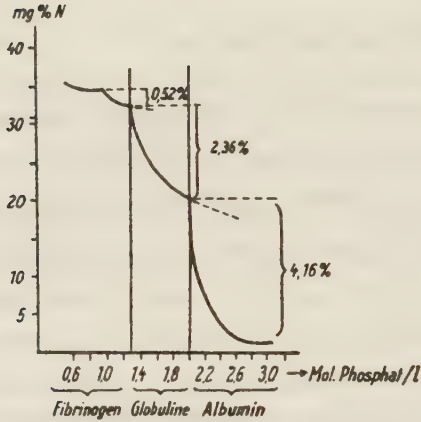
II) Methoden der Fibrinogenbestimmungen

Es sind viele Methoden zur quantitativen Erfassung des Fibrinogens entwickelt worden, von denen sich nur wenige im klinischen Routinelabor durchgesetzt haben. Die meisten Verfahren erfordern einen umfangreichen apparativen und zeitlichen Aufwand oder sind zu ungenau, sodaß ihre Anwendung insbesondere in der Diagnostik von Hypofibrinogenämien oft nur von geringem Nutzen ist. Die Entwicklung der gerinnungsphysiologischen Schnellmethode (2) bedeutete eine wesentliche Vereinfachung zur Bestimmung des Fibrinogens. Mit Hilfe der Schnellmethode und deren Modifizierungen (13, 18, 30, 31) kann eine große Zahl von Fibrinogenbestimmungen in kurzer Zeit durchgeführt werden.

In der folgenden Übersicht werden die wichtigsten Methoden zur quantitativen Fibrinogenbestimmung mit ihrem Prinzip und ihrer klinischen Anwendbarkeit dargestellt.

1) Löslichkeitskurven

Die verschiedenen Plasmaproteine werden von Neutralsalzen in Abhängigkeit von der Salzkonzentration gefällt (33), (Abb. 1). Diese Methode der Fibrinogenbestimmung besitzt heute nur noch historischen Wert.



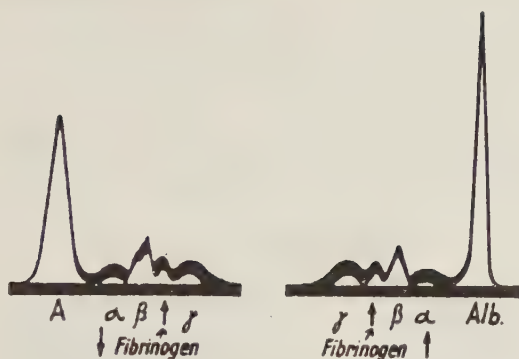
Löslichkeitskurve eines normalen Plasmas (nach Wuhrmann und Leuthardt)

Abb. 1

Diese Abbildung wurde der Arbeit von Schulz (25) entnommen.

2) Elektrophorese

Im elektrischen Feld wandern die Bluteiweißkörper entsprechend ihrer Größe und ihrer elektrischen Ladung. Das Fibrinogen wandert zwischen den β - und γ -Globulinen (34, Abb. 2). Mit Hilfe der kjeldahlometrischen Gesamteiweißbestimmung können die ermittelten relativen Prozentwerte in Absolutwerte umgerechnet werden. Die elektrophoretische Fibrinogenbestimmung ist für den klinischen Routinebetrieb zu ungenau und zeitraubend (12).



Elektrophoresebild eines normalen menschlichen Plasmas

Abb. 2

Diese Abbildung wurde der Arbeit von Schulz (25) entnommen.

3) Ultrazentrifuge

Mit Hilfe der Ultrazentrifuge nach Svedberg und Pedersen (29) lassen sich die Plasmaproteine entsprechend ihrer verschiedenen Sedimentationskonstanten trennen. Die Konzentration der einzelnen Kolloide wird durch ihre verschiedene optische Dichte bestimmt. Die Ultrazentrifugiermethode erfordert einen umfangreichen apparativen Aufwand.

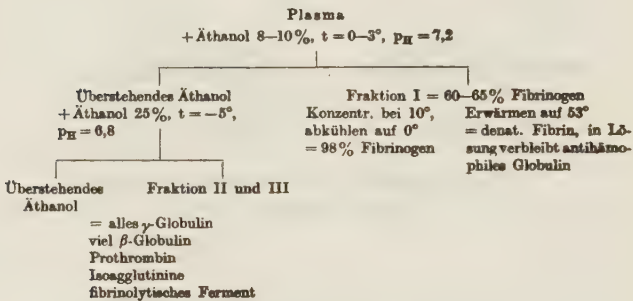
4) Cohn-Fraktionierung

Plasma läßt sich bei niederen Temperaturen mit Äthylalkohol in die einzelnen Eiweißfraktionen auftrennen (9).

Diese Methode eignet sich zur Gewinnung größerer Fibrinogenmengen (16), (Tab. 1).

Tab. 1

Schema einer Cohn-Fraktionierung



5) Nephelometrie

Hierbei handelt es sich um eine photometrische Bestimmung der Fibrinogenkonzentration im rekalkifizierten Plasma durch Messung der Trübungsintensität des ausgefällten Fibrins (6, 9). Diese Methode der Fibrinogenbestimmung ist relativ einfach, erfordert jedoch stets die Herstellung einer Eichkurve.

6) Refraktometrie

Es wird die Fibrinogenkonzentration durch Ermittlung des Brechungsindex des Plasmas gemessen. Bei dieser Methode ist man auf die umständliche Gewinnung und Verwendung von Nativplasma angewiesen, da durch Zitrat- bzw. Oxalatplasma Brechungsfehler auftreten (28).

7) Gravimetrie (8, 11)

Mit der gravimetrischen Methode wird das Fibrinogen in Form des ausgefällten und getrockneten Fibringerinnsels bestimmt. Auch diese Form der Fibrinogenbestimmung findet heute wegen ihrer Umständlichkeit und großen Fehlerbreite keine Anwendung mehr.

8) Fibrinschnellbestimmung durch Hitzekoagulation (26)

Im Zitratplasma wird Fibrinogen durch Hitzeeinwirkung bei 56°C denaturiert. Nach Zentrifugierung des Plasmas in graduierten Nisslröhrchen (ein Teilstrich entspricht 70 mg/100 ml Fibrinogen) kann die ausgefallene Fibrinmenge abgelesen werden (Abb. 3).

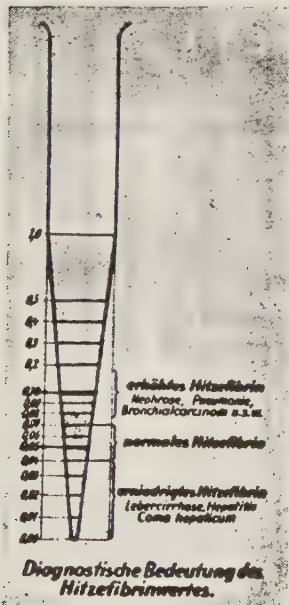
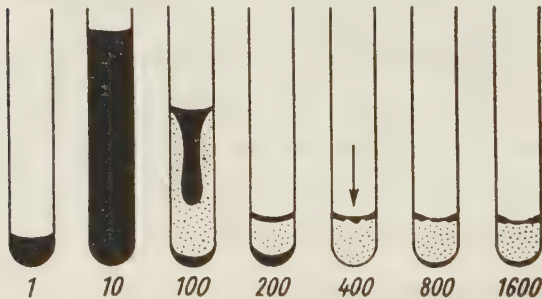


Abb. 3

Darstellung des Hitzefibrins in graduierten Nisslröhrchen; diese Abb. wurde der Arbeit von Schulz (26) entnommen.

9) Fibrinogenbestimmung durch Koagulationstitration (24)

Aus venösem Vollblut werden Verdünnungsreihen (1:10, 1:100, 1:200, 1:400, 1:800, 1:1600) angelegt, in denen die gerade noch wahrnehmbare GerinnSELbildung festgestellt wird. Mit dieser Methode kann der Fibrinogengehalt nur annähernd geschätzt werden (Abb. 4).



Fibrinbestimmung (nach *Schneider*). Im 1. Röhrchen unverdünntes Blut. Dann wird eine absteigende Blutverdünnung hergestellt. Bei einer Verdünnung von 1:400 ist das Gerinnsel unterbrochen

Abb. 4

Diese Abb. wurde aus "Klinische Methoden der Blutgerinnungsanalyse" entnommen (15).

10) Kjeldahlometrie (4)

Das aus dem rekalkifizierten Plasma gewonnene Fibringerinnsel wird mit H_2SO_4 und $Cu(SO_4)$ als Katalysator verascht, wobei der Stickstoff in NH_3 bzw. $(NH_4)_2SO_4$

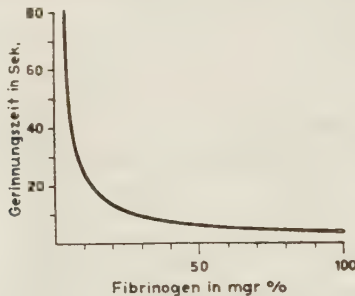
übergeführt wird. Anschließend wird die Veraschungsflüssigkeit mit NaOH alkalisiert unter Freisetzung von NH_3 , das mittels Wasserdampf in eine schwefelsäurehaltige Vorlage bei Anwesenheit eines Indikators überdestilliert wird. Es entsteht $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$. Die nicht verbrauchte Schwefelsäure in der Vorlage wird mit Natronlauge bis zum Farbumschlag zurücktitriert. Der Umrechnungsfaktor für den Stickstoffgehalt wird von den einzelnen Autoren zwischen 5,8 und 6,25 angegeben (25). Mit der kjeldahlometrischen Methode werden sehr genaue Werte ermittelt. Nach Starlinger beträgt die Fehlerbreite 2 - 3 % (28). Sie wird in fast allen Fällen als Referenzmethode bei neuen Fibrinogenbestimmungsverfahren angegeben. Nachteilig ist der große zeitliche Aufwand.

11) Kolorimetrische Bestimmungsmethoden (1, 7, 21)

Das Fibrinogengerinnsel, das durch Rekalzifizierung des Plasmas entsteht, wird mit Natronlauge in Lösung gebracht und mit Biuretreagenz versetzt. Die Konzentration der Peptidbindungen wird photometrisch bestimmt. Die von Görnitz (10) modifizierte Methode, nach der der Verfasser gearbeitet hat, wird in Kapitel III genau besprochen. Mit einer anderen colorimetrischen Methode (21) wird aus dem in Lösung gebrachten Fibringerinnsel das freigesetzte Tyrosin mit dem Folin-Wu-Reagenz photometrisch ermittelt. Die Biuretmethode wird von Hirsch und Cattaneo (14), bezogen auf die kjeldahlometrisch ermittelten Werte, als sehr geeignet betrachtet.

12) Gerinnungsphysiologische Schnellbestimmung des Fibrinogens

Bei hohen Thrombinkonzentrationen besteht im verdünnten Zitratplasma bei der Thrombin-Fibrinogenreaktion eine hyperbolische Abhängigkeit zwischen dem Fibrinogengehalt und dem Gerinnungseintritt (Abb. 5).

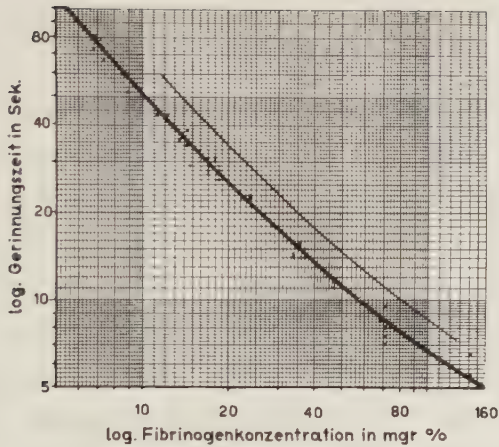


Beziehung von Fibrinogenkonzentration zur Gerinnungszeit. (Fibrinogenlösung verschiedener Konzentrationen und gleiches Volumen Thrombinlösung von konstanter Konzentration. - Die Fibrinogenkonzentrationen beziehen sich auf das Volumen des ganzen Gerinnungsgemisches.)

Abb. 5

Diese Abb. wurde der Arbeit von Clauss (2) entnommen.

Im doppelt logarithmischen Koordinatensystem erhält man als Eichkurve annähernd eine Gerade (Abb. 6). Diese Schnellbestimmungsmethode soll in kurzer Zeit die Durchführung einer großen Anzahl von Fibrinogenbestimmungen ausreichender Genauigkeit ermöglichen. Eine ausführliche Beschreibung der modifizierten Methoden von Boehringer-Mannheim und Merz&Dade wird im folgenden Kapitel gegeben.



Eichkurve (doppelt logarithmisches Koordinatensystem). Die dicke Linie gilt für eine Thrombinlösung von 50 NIH-Einheiten/cm³ in Veronalacetatpuffer (pH 7,4), die dünne für eine ebenso konzentrierte Thrombinlösung in Glycerin. – Die Fibrinogenkonzentrationen beziehen sich auf das *verdünnte* Plasma. Zur Ermittlung der gesuchten Konzentration im unverdünnten Plasma muß der abgelesene Wert also noch entsprechend multipliziert werden; bei einer Verdünnung von 1/10 zum Beispiel mit 10.

Abb. 6

Diese Abb. wurde der Arbeit von Clauss (2) entnommen.

III) Material und Methoden

1) Patientengut

An 99 Personen beiderlei Geschlechts (45 ♂, 54 ♀), die zwischen 22 und 69 Jahre alt waren, wurden z. T. mehrfach vergleichende Fibrinogendoppelbestimmungen durchgeführt. 49 Personen waren gesunde Probanden (35 ♂, 14 ♀), 50 (10 ♂, 40 ♀) waren als Patienten mit vornehmlich hämatologischen Erkrankungen zur stationären Betreuung in der 1. Med. Klinik u. Poliklinik der Universitätskliniken in Mainz aufgenommen worden.

2) Blutentnahme und Zentrifugation

Aus der nicht gestauten Cubitalvene wurden 4,5 ml Nativblut in Einmalspritzen aufgezogen und mit einer Vorgabe von 0,5 ml einer 3,8 %igen Natriumzitratlösung zur Gerinnungshemmung gut durchmischt. Die Blutentnahme erfolgte jeweils morgens zur gleichen Zeit. Das Zitratblut wurde in Zentrifugenröhrchen gegeben, die frei von Detergentienrückständen waren, und innerhalb von 20 - 30 Minuten zentrifugiert. Anschließend wurde das von korpuskulären Bestandteilen freie Plasma in ein weiteres Reagenzglas überpipettiert und bis zur Fibrinogenbestimmung bei 4°C aufbewahrt.

3) Fibrinogenbestimmung durch die Biuretmethode (Modifikation nach Görnitz)

- h) Brutschrank
- i) Wasserbad
- j) 20 μ l Marburg-Pipette⁴⁾
- k) Automatischer Dosierer
- l) Calculating Absorptiometer⁵⁾

Ausführung:

Nach der Blutentnahme und Zentrifugation werden 0,2 ml des zu untersuchenden Plasmas mit 2,0 ml Gerinnungsreagenz und 0,05 ml Thrombinlösung versetzt. Der Reaktionsansatz wurde gut durchmischt und für 10 Minuten im Brutschrank bei 37°C inkubiert. Die in dieser Zeit gebildete gallertige Fibrinmasse wurde anschließend 15 Minuten bei 4000 U/min zentrifugiert und danach zweimal mit physiologischer Kochsalzlösung gewaschen. Nach Dekantierung des Überstandes und Trocknung wurde das Fibringerinnsel mit 0,02 ml 1-molarer NaOH versetzt und zur vollständigen Hydrolyse für 20 Minuten in einem Wasserbad von 60°C inkubiert. Mit einem automatischen Dosierer wurde das Hydrolysat mit 1,0 ml Biuret-Reagenz versetzt. Nach einer Reaktionszeit von 25 Minuten wurde die Fibrinkonzentration im Calculating Absorptiometer gegen den Leerwert im Wellenlängenbereich 545 nm bestimmt.

4) Fa. Eppendorf GmbH, Hamburg

5) LKB 7400, LKB-Produkter AB, Stockholm, Schweden

Der ausgedruckte Wert zuzüglich 10 % (Zitratverdünnung) ergibt die endgültige Fibrinogenkonzentration.

4) Gerinnungsphysiologische Fibrinogenbestimmungen

Die Thrombin-Fibrinogen-Wechselbeziehungen sind abhängig von den Substratkonzentrationen. Geringe Änderungen im Bereich niedriger Fibrinogenkonzentrationen bewirken bei konstant hoher Thrombinkonzentration große Änderungen in der Gerinnungszeit (5, 26). Im Bereich von 5 mg/100 ml bis 50 mg/100 ml Fibrinogen beträgt die Gerinnungszeitdifferenz etwa 50 Sekunden, im Bereich von 50 mg/100 ml bis 500 mg/100 ml ändert sie sich nur noch gering. Analog gilt diese Beziehung auch für variierende Thrombinkonzentrationen bei konstanter Fibrinogenkonzentration. In einem Gerinnungssystem, das empfindlich auf Schwankungen der Fibrinogenkonzentration reagieren soll, muß demzufolge das zu untersuchende Plasma so verdünnt werden, daß seine Fibrinogenkonzentration in den Bereich von 5 mg/100 ml bis 50 mg/100 ml fällt.

So wird verdünntem und auf 37°C erwärmten Zitratplasma Thrombin im Überschuß zugeführt. Die Zeit bis zum Gerinnungseintritt ist ein Maß für die Fibrinogenkonzentration (Abb. 6).

a) Fibrinogenbestimmung nach Boehringer

Reagenzien und Geräte

- 1) Fibrinogenreagenz; i. e. lyophilisiertes Thrombin
- 2) Kontrollplasmen normal und abnormal
- 3) Pufferlösung ph 7,35
- 4) Aqua bidest.
- 5) Marburgpipette¹⁾
- 6) Koagulometer Schnitger und Gross²⁾

Ausführung:

Die Kontrollplasmen wurden in der Originalflasche mit 0,5 ml Aqua bidest. gelöst und nach einer Reaktionszeit von 10 Minuten mit Veronalpuffer 1/10 verdünnt. Zugleich wurde das Fibrinogenreagenz ebenfalls im Originalfläschchen in 2,0 ml Aqua bidest. gelöst. Von den verdünnten Kontrollplasmen wurden 0,2 ml in ein Reagenzgläschen pipettiert und für genau 1 Minute bei 37°C in der Reaktionskammer des Koagulometers inkubiert. Danach wurde das Fibrinogenreagenz zugegeben und zugleich das Zählwerk des Koagulometers in Gang gesetzt. Mit Bildung des ersten Fibrinfädchens stoppte das Zählwerk und zeigte die bis zum Gerinnungseintritt vergangene Zeit in Halbsekundenschritten an. Die der Gerinnungszeit entsprechende Fibrinogenkonzentration

1) Fa. Eppendorf GmbH, Hamburg

2) Fa. H. Amelung, Lemgo-Brake

läßt sich aus einer mitgelieferten Tabelle entnehmen. In allen Fällen bewegten sich die Konzentrationen der Kontrollplasmen im für die Messung vorgeschriebenen Bereich: Sie betrugen für Fibrinogen Control 228 mg/100 ml $\pm$ 10 %, für Fibrinogen Control abnormal 95 mg/100 ml $\pm$ 10 %. Jede Bestimmung wurde doppelt durchgeführt; die Fibrinogenkonzentration ergab sich aus dem arithmetischen Mittel der beiden Einzelergebnisse. Diese Vorschrift galt auch für alle weiteren Fibrinogenbestimmungen, auch bei den Mehrfachbestimmungen zur Ermittlung des Methodenfehlers.

b) Fibrinogenbestimmung nach Dade

Reagenzien und Geräte

- 1) Thrombin (bovin) 100 N.I.H.-Einheiten/ml
- 2) Fibrinogenstandard
- 3) Owren's Veronalpuffer ph 7,35
- 4) Aqua bidest.
- 5) Marburgpipetten 0,1 ml und 0,2 ml¹⁾
- 6) Koagulometer Schnitger und Gross²⁾

Ausführung:

Der Fibrinogenstandard (258 mg/100 ml) wurde mit 1,0 ml Aqua bidest. im Originalfläschchen versetzt. Nach

1) s. o.

2) s. o.

10 Minuten wurde die Standardlösung mit Owren's Veronalpuffer 1/5, 1/15, 1/40 verdünnt. Von jeder Verdünnung wurden jeweils 0,2 ml 1 bis 2 Minuten in der Reaktionskammer des Koagulometers inkubiert. Danach wurden die verdünnten Standardlösungen mit 0,1 ml Thrombinlösung versetzt. Zugleich wurde das Zählwerk des Koagulometers angestellt. Auf doppellogarithmischem Papier wurden die ermittelten Zeiten gegen die den Verdünnungen entsprechenden Fibrinogenkonzentrationen aufgetragen. Die Verbindung der Punkte ergibt annähernd eine Gerade, die als Eichkurve diente. Sie war in allen Fällen praktisch mit der von Dade vorgegebenen Eichgeraden identisch.

Die zu untersuchenden Zitratplasmen wurden 1/10 mit Owren's Veronalpuffer verdünnt; die weitere Behandlung der verdünnten Zitratplasmalösungen ist wie bei den Standardlösungen; die der Gerinnungszeit entsprechende Fibrinogenkonzentration wurde aus der Eichgeraden abgelesen.

5) Statistische Auswertungsmethoden

a) Zur Ermittlung der Meßgenauigkeit der Methoden

(Methodenfehler) wurden bei den gleichen 22 gesunden Probanden maximal 5 Mehrfachbestimmungen pro Methode durchgeführt. Mittels einfacher Varianzanalyse wurde das Mittlere Abweichungsquadrat (MAQ) innerhalb der

Wiederholungsmessung bestimmt. Die Wurzel aus diesem Wert ergibt den Methodenfehler.

b) Zur Prüfung, ob eine Umrechnung zwischen den Methoden möglich ist, wurden folgende Verfahren angewandt:

α) Es wurde eine zweifache Varianzanalyse mit doppelter Zellenbesetzung durchgeführt. Anschließend wurde geprüft, ob die Wechselwirkung zwischen den Methoden und Plasmen sich mehr als rein zufällig unterscheidet. Nur im Fall einer nicht signifikanten Wechselwirkung erscheint eine Umrechnung zwischen den Methoden sinnvoll.

β) Die Meßwerte eines Probanden für je zwei Methoden werden in einem Korrelationsdiagramm dargestellt und die Regressionsgeraden berechnet (17, 32).

IV) Ergebnisse

1) Die Ermittlung der Meßgenauigkeit der Methoden (Methodenfehler)

Die Ermittlung der Meßgenauigkeit bei der Fibrinogenbestimmung ergab bei den drei Methoden die in Tab. 2 aufgeführten Kennwerte.

Tab. 2

Statistische Maßzahlen für den Vergleich der Meßgenauigkeit zwischen den Methoden			
Methoden	Meßfehler mg/100 ml	Mittelwert mg/100 ml	rel. Meßfehler (Variationskoeff.)
Modifizierte Biuretbestimmung	41,4	255,9	16,4 %
Gerinnungsphysiol. Fbg.-Bestimmung Boehringer	34,3	272,3	12,5 %
Gerinnungsphysiol. Fbg.-Bestimmung Dade	36,3	264,8	13,6 %

Es zeigt sich, daß der relative Meßfehler zwischen ca 12 % und 16 % liegt, wobei die beiden gerinnungsphysiologischen Bestimmungsmethoden einen etwas geringeren Fehler aufweisen als die optische Methode.

Die Einzelwerte und Mittelwerte pro Person und Methode sind im Anhang aufgeführt. (Tab. 1).

2) Umrechenbarkeit zwischen den Methoden

Tab. 3

Varianzanalysetabelle für den Methodenvergleich				
Art der Varianz	Anz. d. Freiheitsgrade	mittleres Abw. quadrat	F-Wert	
Zwischen Methoden	2	2592,7	4,5	auffällig
Zwischen Plasmen	21	40294,3	22,1	signifikant
Wechselwirkung Methoden/ Plasmen	42	575,7	0,3	nicht signifikant
Wiederholung	66	1830,0		

Wie aus Tab. 3 hervorgeht, besteht ein auffälliger Unterschied zwischen den Methoden, wobei dieser Unterschied zwischen der Biuretmethode einerseits und den gerinnungsphysiologischen Ansätzen andererseits liegt. Jedoch ist Wiederholung zwischen den Methoden und Plasmen nicht signifikant; daher müßte eine globale Umrechnung der Meßwerte zwischen den Methoden möglich sein, da ein Plasma mit hohem Fibrinogengehalt mit allen Methoden einen hohen Wert hat und umgekehrt.

3) Methodenvergleich bei Fibrinogenwerten im Normbereich;
Biuretmethode versus Boehringer bzw. Dade

Bei 77 Patienten und gesunden Probanden lagen die Fibrinogenwerte im Normbereich, der von Boehringer mit 150 - 450 mg/100 ml, von Dade mit 170 - 410 mg/100 ml angegeben wird. Die statistischen Maßzahlen für den

Methodenvergleich sind in Tab. 4 aufgeführt, die Einzelergebnisse im Anhang in Tab. 2.

Tab. 4

Statistische Maßzahlen für den Vergleich Biuret versus Boehringer bzw. Dade; $n = 77$

	b	a	s_y	$\hat{b}$	$\hat{a}$	$s_{\hat{y}}$	r	$\bar{x}$	s
Boehr.	0,73	87,1	37,9	1,10	-38,2	46,7	0,90	300,5	84,9
Dade	0,69	86,4	37,4	1,15	-36,9	48,4	0,89	287,7	80,8
Biuret								293,0	104,4

Abb. 8a und 8b gibt das Korrelationsdiagramm der Meßwerte für Biuret gegen Boehringer bzw. Biuret gegen Dade wieder.

Die Regressionsgeraden für die Umrechnung lauten:

I) Umrechnung von Biuret nach Boehringer: $y = 0,73 x + 87,1$

II) Umrechnung von Boehringer nach Biuret: $x = 1,10 y - 38,2$

I) Umrechnung von Biuret nach Dade: $y = 0,69 x + 86,4$

II) Umrechnung von Dade nach Biuret: $x = 1,15 y - 36,9$

Abb. 8 a

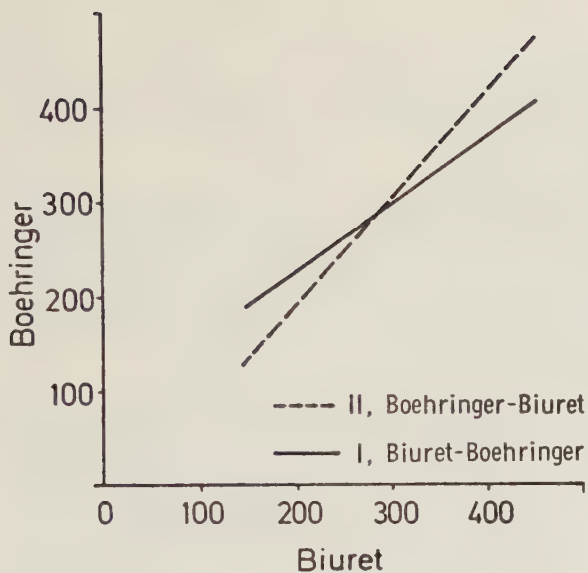
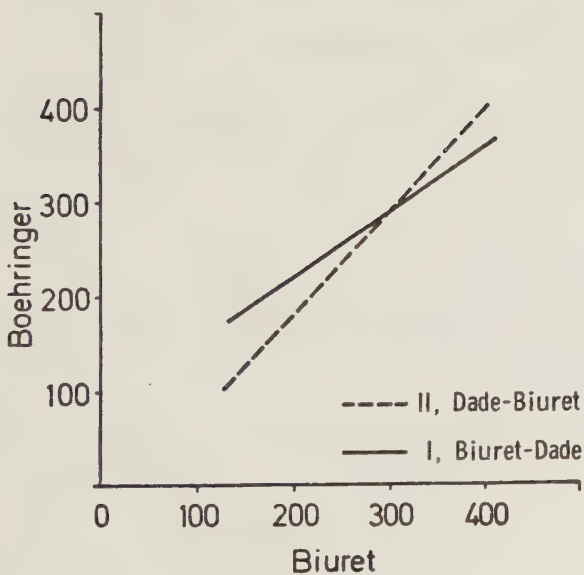


Abb. 8 b



4) Methodenvergleich bei Fibrinogenkonzentrationen

450 bzw. 410 mg/100 ml

Die obere Grenze der Normwerte wird bei Boehringer mit 450 mg/100 ml, bei Dade mit 410 mg/100 ml angegeben. Bei 19 Patienten überstiegen die Fibrinogenkonzentrationen diese Schranke.

Die statistischen Maßzahlen für den Methodenvergleich sind in Tab. 5 aufgeführt. Die Korrelationsdiagramme in Abb. 9a und 9b geben die Verhältnisse zwischen den Methoden für diese Werte wieder. Die Einzelergebnisse sind im Anhang aufgeführt (Tab. 3).

Tab. 5

Statistische Maßzahlen für den Vergleich Biuret versus Boehringer bzw. Dade bei übernormalen Meßergebnissen

	b	a	sy	$\hat{b}$	$\hat{a}$	$s\hat{y}$	r	$\bar{x}$	s
Boehr.	0,53	235,7	58,2	0,63	189,6	63,2	0,58	502,5	63,2
Dade	0,68	161,1	50,9	0,76	122,3	53,9	0,72	501,7	70,9
Biuret								503,0	75,1

Die Gleichungen für die Regressionsgeraden lauten:

- I) Umrechnung von Biuret nach Boehringer: $y = 0,53 x + 235,7$
 II) Umrechnung von Boehringer nach Biuret: $x = 0,63 y + 189,6$
 I) Umrechnung von Biuret nach Dade: $y = 0,68 x + 161,1$
 II) Umrechnung von Dade nach Biuret: $x = 0,76 y + 122,6$

Abb. 9a

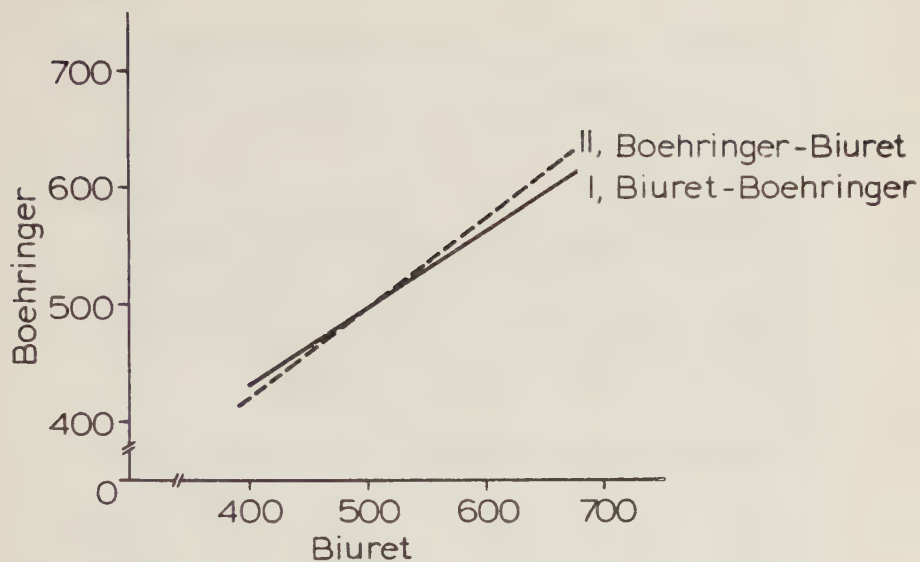
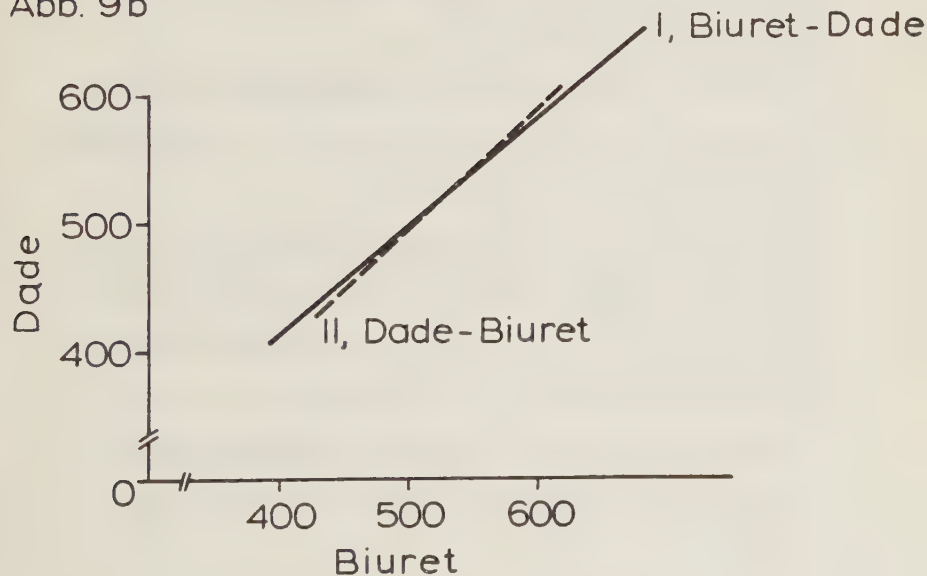


Abb. 9b



5) Methodenvergleich bei hyponormalem Fibrinogengehalt
150 bzw. 170 mg/100 ml

In einem weiteren Untersuchungsschritt wurde geprüft, ob die gerinnungsphysiologischen Schnelltestverfahren eine hinreichend zuverlässige Methode bei der Bestimmung niedriger Fibrinogenkonzentrationen darstellen. Die unteren Normalwerte werden von Boehringer mit 150 mg/100 ml, von Dade mit 170 mg/100 ml angegeben.

Im Zeitraum dieser Untersuchungen konnte bei keinem Patienten eine Hypofibrinogenämie festgestellt werden. Daher wurden die Plasmen von 15 Probanden, deren Fibrinogenwerte im Normbereich lagen, in drei Stufen 1:2, 1:4 und 1:8 mit dem homologen Serum verdünnt. Für jede Methode und jede Verdünnungsstufe wurden die Fibrinogenkonzentrationen bestimmt.

Die statistischen Maßzahlen für diesen Methodenvergleich gibt die Tab. 6a-c wieder. Die Einzelwerte der hyponormalen Meßergebnisse sind im Anhang aufgeführt.

Die Mittelwerte der Fibrinogenkonzentrationen in den einzelnen Titerstufen entsprechen, wie zu erwarten war, bei allen drei Methoden den aus den Verdünnungsverhältnissen vorgegebenen Werten.

In Abb. 10 sind in Form eines Säulendiagramms für jede Methode die Mittelwerte der einzelnen Titerstufen dargestellt.

Tab. 6a-c

Statistische Maßzahlen für den Vergleich innerhalb der Methode

a) Boehringer

Unverdünntes Plasma gegen verdünntes Plasma							
Verdünnung	b	a	sy	r	$\bar{x}$	s	VK
unverd.					337,5	99,2	
1:2	0,57	-12,6	28,3	0,90	178,2	62,4	15,7
1:4	0,34	-22,1	19,1	0,89	91,9	38,2	21,8
1:8	0,19	-19,3	10,9	0,87	43,0	21,1	25,3

b) Dade

Unverdünntes Plasma gegen verdünntes Plasma							
Verdünnung	b	a	sy	r	$\bar{x}$	s	VK
unverd.					340,6	109,8	
1:2	0,57	-16,7	19,4	0,96	177,0	65,2	16,6
1:4	0,23	5,2	19,5	0,81	84,7	31,8	18,2
1:8	0,12	1,8	9,9	0,81	43,1	16,4	23,1

c) Biuret

Unverdünntes Plasma gegen verdünntes Plasma							
Verdünnung	b	a	sy	r	$\bar{x}$	s	VK
unverd.					362,5	130,5	
1:2	0,47	0,3	20,7	0,95	170,1	64,3	12,2
1:4	0,18	14,9	9,0	0,94	84,3	26,4	10,6
1:8	0,12	-3,7	7,5	0,91	40,6	17,5	17,4

Die Gleichungen der Regressionsgeraden lauten für die umrechnung von unverdünntem Plasma gegen verdünntes Plasma bei

a) Boehringer bei der

$$1:2 \text{ Verdünnung: } \bar{y} = 0,75 x - 12,6$$

$$1:4 \text{ Verdünnung: } y = 0,34 x - 22,1$$

$$1:8 \text{ Verdünnung: } y = 0,19 x - 19,3$$

b) Dade bei der

$$1:2 \text{ Verdünnung: } y = 0,57 x - 16,7$$

$$1:4 \text{ Verdünnung: } y = 0,23 x + 5,2$$

$$1:8 \text{ Verdünnung: } y = 0,12 x + 1,8$$

c) Biuret bei der

$$1:2 \text{ Verdünnung: } y = 0,47 x + 0,3$$

$$1:4 \text{ Verdünnung: } y = 0,19 x + 14,9$$

$$1:8 \text{ Verdünnung: } y = 0,12 x - 3,7$$

In Abb. 11a sind in einem Korrelationsdiagramm die Meßwerte, die mit den Methoden Boehringer (I), Dade (II) und Biuret (III) in unverdünntem Plasma gewonnen wurden gegen die mit denselben Methoden in 1:2 verdünntem Plasma gewonnenen Werte aufgezeichnet.

Die Abb. 11b und 11c geben in einem Korrelationsdiagramm die entsprechenden Werte für Boehringer (I), Dade (II) und Biuret (III) in 1:4 bzw. 1:8 verdünntem Plasma wieder.

Abb. 10

MITTELWERTE UND STANDARDFEHLER DER MITTELWERTE
DER VERSCHIEDENEN TITERSTUFEN FÜR JEDE METHODE

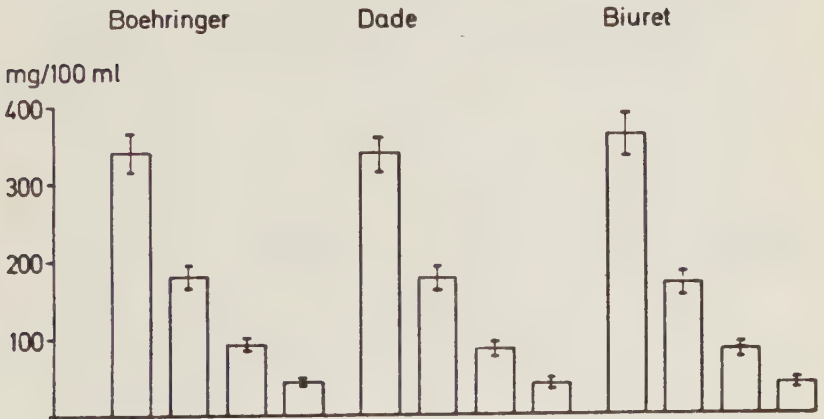


Abb. 11 a

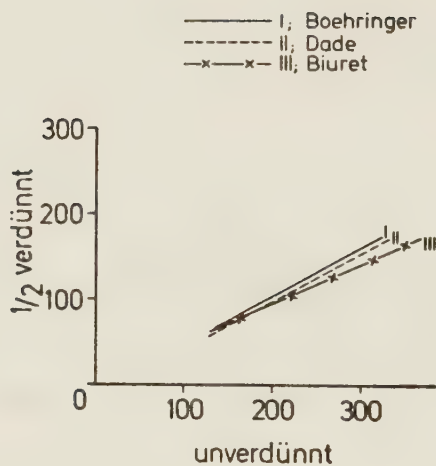


Abb. 11 b

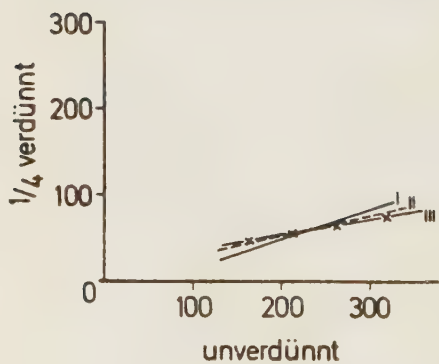
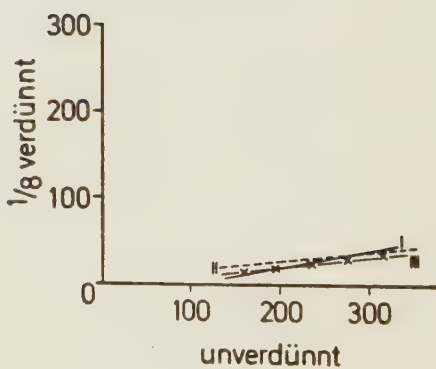


Abb. 11 c



6) Der Einfluß von Heparin auf die Fibrinogenkonzentration

Es wurde untersucht, ob ein signifikanter Heparinspiegel, dessen Wirksamkeit sich in einer deutlich verlängerten Prothrombinzeit äußerte, einen Einfluß auf die Fibrinogenmeßwerte bei den gerinnungsphysiologischen Schnellmethoden hat.

Hierzu wurden 11 gesunden Probanden mit einem Körpergewicht zwischen 70 kg und 90 kg 15000 - 25000 Einheiten Heparin (Liquemin^R) intravenös in die Cubitalvene injiziert. Unmittelbar vor, zwei bis drei Stunden nach und 24 Stunden nach der Heparininjektion wurde die jeweilige Fibrinogenkonzentration und die korrespondierende Prothrombinzeit, im Folgenden in %-Quickwert wiedergegeben, bestimmt. Die 24-Stundenwerte wurden ermittelt, um eventuelle Schwankungen in den Fibrinogenkonzentrationen, hervorgerufen durch Heparinspalt- bzw.-abbauprodukte, festzustellen.

Tab. 7

Quickwerte in % vor, 2 - 3 Stunden nach und 24 Stunden nach Heparininjektion			
	vor H.inj.	2-3 Std. nach H.inj.	24 Std. nach H.inj.
1)	81	13	78
2)	96	17	100
3)	67	22	67
4)	87	30	100
5)	100	26	100
6)	87	28	100
7)	100	23	72
8)	100	32	84
9)	71	27	100
10)	78	32	100
11)	64	23	97

Tab. 7 zeigt deutlich den Einfluß der Heparinwirkung;
in allen Fällen ist der Quickwert stark erniedrigt. Nach
24 Stunden war keine Heparinwirkung mehr nachweisbar. Die
den Quickwerten entsprechenden Fibrinogenkonzentrationen
sind in Tab. 8 aufgeführt.

Tab. 8

Fibrinogenkonzentrationen vor 2 - 3 Stunden nach und 24 Stunden nach iv-Heparininjektion in mg/100 ml									
	Boehringer vor n.2Std. n.24Std.			Dade vor n.2Std. n.24Std.			Biuret vor n.24Std.		
1)	246	253	250	255	276	260	236	246	
2)	259	225	232	233	212	227	207	219	
3)	292	314	269	300	310	260	264	228	
4)	194	199	214	195	192	207	177	200	
5)	199	220	203	203	194	203	159	188	
6)	208	209	192	215	193	203	150	186	
7)	218	221	233	217	212	234	220	235	
8)	199	214	215	193	207	217	147	210	
9)	237	275	241	213	312	234	178	193	
10)	194	179	183	170	183	168	178	141	
11)	174	175	174	178	173	173	170	138	

Aus den in Tab. 8 festgehaltenen Ergebnissen geht hervor, daß die Fibrinogenkonzentrationen, die mit den gerinnungsphysiologischen Methoden ermittelt wurden, keine Abhängigkeit von der durch Heparin hervorgerufenen verlängerten Prothrombinzeit zeigen. Dies wird noch deutlicher durch die Mittelwerte aller Ergebnisse pro Methode belegt, die sich nur ganz geringfügig voneinander unterscheiden. Tab. 9 verdeutlicht die zahlenmäßigen Verhältnisse.

Tab. 9

Mittelwerte und Standardabweichungen der Fibrinogenkonzentrationen pro Methode vor und nach Heparininjektion			
		$\bar{x}$	s
Boehringer:	ohne Heparinzusatz	219,5	36,9
	mit Heparinzusatz; nach 2-3 Std.	216,9	30,9
	mit Heparinzusatz; nach 24 Std.	221,4	32,1
Dade:	ohne Heparinzusatz	221,6	36,6
	mit Heparinzusatz; nach 2-3 Std.	218,7	29,4
	mit Heparinzusatz; nach 24 Std.	217,0	31,2
Biuret:	ohne Heparinzusatz	189,6	37,5
	mit Heparinzusatz; nach 24 Std.	198,5	35,0

Auch die Mittelwerte der 24-Stundenergebnisse zeigen keine signifikanten Schwankungen, sodaß ein Einfluß von Heparinstoffwechselprodukten auf die Fibrinogenkonzentration ausgeschlossen werden kann.

In Tab. 10 sind die statistischen Maßzahlen für den Vergleich innerhalb einer Methode wiedergegeben, wobei bei den gerinnungsphysiologischen Methoden die 2-Stundenwerte, bei der Biuretmethode der 24-Stundenwert herangezogen wurde. Mit der Biuretmethode läßt sich in heparinisiertem Blut die Fibrinogenkonzentration nicht oder nur sehr ungenau bestimmen.

Wie weiterhin aus Tab. 10 hervorgeht, bleibt der Meßfehler, ausgedrückt in sy bei der Methode Boehringer und Dade unverändert, während er bei der Biuretmethode um etwa das Doppelte steigt.

Tab. 10

Maßzahlen für den Vergleich der Fibrinogenkonzentrationen bei gleichen Personen vor und nach Heparin-gabe innerhalb einer Methode

	b	a	sy	b	à	sŷ	r
Boehringer	0,72	58,2	13,9	1,12	-23,5	16,7	0,90
Dade	0,82	62,3	15,7	1,06	-13,9	19,1	0,87
Biuret	0,58	8,9	29,1	0,66	58,8	31,1	0,62

Abb. 12 gibt das Korrelationsdiagramm für die mit der a) Methode Boehringer vor gegen die mit der Methode Boehringer nach Heparin-gabe gewonnenen Meßwerte.

Die Regressionsgerade für die Umrechnung lautet:

$$I) y = 0,72 x + 58,2$$

b) Methode Dade vor gegen die mit der Methode Dade nach Heparin-gabe gewonnenen Meßwerte.

Die Regressionsgerade für die Umrechnung lautet:

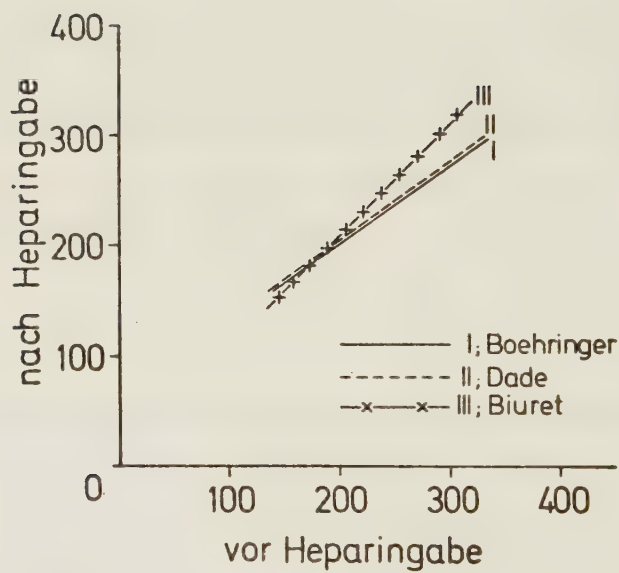
$$II) y = 0,82 x + 62,3$$

c) Biuretmethode vor gegen die mit der Biuretmethode nach Heparin-gabe gewonnenen Meßwerte.

Die Regressionsgerade für die Umrechnung lautet:

$$III) y = 0,58 x + 8,9$$

Abb. 12



V) Diskussion

Der Vergleich der Meßdaten, die mit der Biuretmethode gewonnen wurden, mit denen der gerinnungsphysiologischen Schnellverfahren, zeigt eine unterschiedliche Übereinstimmung in den Meßbereichen wie auch Unterschiede im Vergleich der Meßgenauigkeiten.

Während die Methodenfehler für die Bestimmungsmethode nach Boehringer, bezogen auf den Mittelwert von 272 mg/100 ml 12,5 %, für die Methode Dade (Mittelwert 264 mg/100 ml) 13,6 % betragen, liegt er bei der Biuretmethode (Mittelwert 255,3 mg/100 ml) bei 16,4 %.

Aus diesen Daten geht hervor, daß die gerinnungsphysiologischen Schnelltests die als Referenzmethode herangezogene Biuretmethode an Genauigkeit geringfügig übertreffen. Diese Ergebnisse werden insofern gestützt, als Simon und Schneider mit einer nach Vermylen modifizierten Schnellmethode eine noch größere Genauigkeit erzielen konnten (27, 30). Sie benutzten als Referenzmethode das Kjeldahlverfahren.

Ein unterschiedlicher korrelativer Zusammenhang zeigt sich zwischen den Ergebnissen im Normbereich und im hypernormalen Bereich. Die Korrelationskoeffizienten differieren nur geringfügig (Biuret/Boehr. 0,90, Biuret/Dade 0,89), während im hypernormalen Bereich mit $r=0,58$ und $r=0,72$ eine nur mäßige Korrelation zwischen Biuret/Boehr. und Biuret/Dade

besteht. Dieses unterschiedliche korrelative Verhalten ist jedoch bedeutungslos, da die Korrelationskoeffizienten keine brauchbare Maßzahl für den Methodenvergleich darstellen, denn ihr numerischer Wert hängt stark vom Meßwertebereich ab. Hinzu kommt, daß im hypernormalen Bereich nur geringe Differenzen in der Koagulationszeit große Änderungen im Meßergebnis zur Folge haben. So entsprechen z. B. bei der Methode nach Dade einer Koagulationszeit von 4,5 sec 500 mg/100 ml Fibrinogen, einer Koagulationszeit von 4,0 sec 565 mg/100 ml Fibrinogen, d. h. 13 % mehr als bei 4,5 sec. In Bereichen mit niedrigerer Fibrinogenkonzentration und folglich längerer Koagulationszeit wirkt sich eine Halbsekundendifferenz weniger gravierend aus: Einer Koagulationszeit von 10,0 sec entsprechen 205 mg/100 ml Fibrinogen, 10,5 sec entsprechen 195 mg/100 ml Fibrinogen. Weitere Quellen für Ungenauigkeiten im Meßergebnis sind Pipettierfehler und die nicht exakt synchrone Applikation von Thrombin in das Reagiergefäß einerseits und das Starten des Koagulometers andererseits.

Neuerdings stehen Koagulometer zur Verfügung, die den Gerinnungseintritt in Zehntelsekundenschritten anzeigen.

Aus den statistischen Maßzahlen für die hypernormalen Meßergebnisse läßt sich, bezogen auf den Mittelwert, ein Variationskoeffizient von 12,5 % für die Methode Boehringer errechnen. Für die Methode Dade ergibt sich ein Variationskoeffizient von 14,2 %, für die Biuretmethode von 14,9 %.

Diese Ergebnisse zeigen, daß die Meßfehler im Normbereich wie auch im hypernormalen Bereich weitgehend übereinstimmen.

Im hyponormalen Bereich, der durch 2-, 4-, 8-fache Verdünnung von Normalplasmen mit dem homologen Serum erreicht wurde, entsprachen bei allen Methoden die Mittelwerte weitgehend den Titerstufen und mit ihnen auch die Standardabweichungen. Die Variationskoeffizienten steigen in den drei Verdünnungsschritten bei der Methode Boehringer von 15,7 % über 21,8 % auf 25,3 % in der 1/8 Verdünnung an.

Bei der Methode Dade bewegt sich der Variationskoeffizient mit zunehmender Verdünnung zwischen 16,6 % (1/2 Verdünnung), 18,2 % (1/4 Verdünnung) und 23,1 % (1/8 Verdünnung).

Die entsprechenden Variationskoeffizienten für die Biuretmethode betragen 12,2 %, 10,6 % und 18,4 %.

Der Standardfehler wird bei allen drei Meßverfahren mit zunehmender Verdünnung relativ größer; die Ursache hierfür liegt möglicherweise bei den gerinnungsphysiologischen Methoden in der Veränderung der Mischungsverhältnisse der reagierenden Substanzen auf 1:5, 1:2 und sogar 1:1 um in den günstigsten Meßbereich zu gelangen.

Die hier erörterten Ergebnisse differieren nur geringfügig von den Daten von Simon und Schneider (27), die aus

einer u. a. mit 75 mg/100 ml konzentrierten Fibrinogenlösung durch zehnmahlige Konzentrationsbestimmung einen Variationskoeffizienten von 5,5 % ermittelten, allerdings mit einer reinen Fibrinogenlösung arbeiteten.

Die Ergebnisse, die in den Tabellen 8-10 zusammengefaßt sind, zeigen, daß die Meßgenauigkeit bei den gerinnungsphysiologischen Methoden nicht durch die Anwesenheit von Heparin oder Heparinstoffwechselprodukten beeinträchtigt wird. Folglich kann man eine Fibrinogenbestimmung mit diesen Verfahren bei heparinisierten Patienten durchführen, während z. B. mit der Biuretmethode fälschlich zu niedrige Werte angezeigt werden würden. Auch bei mit Marcumar^R antikoagulierten Patienten ist eine Fibrinogenbestimmung möglich. Zusammenfassend lassen sich die vorliegenden Ergebnisse wie folgt interpretieren:

Es besteht kein wesentlicher Unterschied in der Meßgenauigkeit zwischen der Biuretmethode und den gerinnungsphysiologischen Schnelltests. Im Normbereich und im hypernormalen Bereich nehmen die Variationskoeffizienten Werte zwischen 12 % und 16 % an. Im hyponormalen Bereich liegen die Variationskoeffizienten in der letzten Verdünnungsstufe zwischen 23 % und 25 %.

Demnach sind die physiologischen Schnelltests den chemisch-physikalischen Verfahren in mehreren Bereichen überlegen und daher vorzuziehen:

- 1) Ihre praktische Handhabung erlaubt in kurzer Zeit eine große Anzahl von Fibrinogenbestimmungen durchzuführen.
- 2) Mit den gerinnungsphysiologischen Verfahren wird nur biologisch aktives Fibrinogen bestimmt.
- 3) Mit den gerinnungsphysiologischen Verfahren läßt sich in Plasmen von heparinisierten und antikoagulierten Patienten das Fibrinogen bestimmen.
- 4) Die Anwesenheit eines Gerinnungslabors ist nicht erforderlich, vielmehr kann man sogar in einem mit einem Koagulometer ausgestatteten Notlabor eine Fibrinogenbestimmung schnell und leicht und etwa 30 Minuten eher als mit den bisher üblichen Methoden durchführen.

VI) Zusammenfassung

Die vorliegende Arbeit vergleicht zwei im Handel befindliche gerinnungsphysiologische Schnellmethoden zur Bestimmung des Fibrinogens der Firmen Boehringer/Mannheim GmbH und Merz & Dade mit einer modifizierten Biuretmethode. Zur Untersuchung kamen 99 Plasmen von Patienten und gesunden Probanden männlichen und weiblichen Geschlechts.

Die mit den drei Untersuchungsverfahren ermittelten Fibrinogenwerte wiesen je nach Meßbereich eine unterschiedliche Präzision auf. Die Variationskoeffizienten lagen im Normbereich und im übernormalen Bereich zwischen 12 % und 16 %, während sie im hyponormalen Bereich Werte zwischen 37 % und 49 % annahmen. Die Schwierigkeit der Interpretation eines im hyponormalen Konzentrationsbereich liegenden Wertes wurde diskutiert.

Es konnte gezeigt werden, daß die gerinnungsphysiologischen Verfahren der Biuretmethode überlegen sind, da sie weitaus schneller Ergebnisse liefern und sich überdies einfacher handhaben lassen. Zudem wird in Anwesenheit von Heparin und Heparinspaltprodukten sowie von Antikoagulantien das Meßergebnis nicht beeinflusst.

VII) Literaturverzeichnis

- 1) Astrup, T., P. Brakman und U. Nissen:

The estimation of fibrinogen. A revision
Scand. J. clin. Lab. Invest. 17, 57 (1965)

- 2) Clauss, A.:

Gerinnungsphysiologische Schnellmethode zur
Bestimmung des Fibrinogens.
Acta haemat. (Basel) 17, 237 (1957)

- 3) Cohn, E. J.:

Chemical, physiological and immunological
properties and clinical uses of blood derivatives.
Experimentia, 3, 125 (1947)

- 4) Cullen, G. E. und D. D. van Slyke:

Determination of the fibrin, globulin and
albumin nitrogen of the blood plasma.
J. biol. Chem. 41, 587 (1920)

- 5) Deutsch, E.:

Blutgerinnungsfaktoren, Bd. 1
Deuticke Verlag, Wien 1955

- 6) Ebbecke, U. und F. Knüchel:

Pflügers Arch. ges. Physiol. 243, 54 (1939)
zit. in: Knüchel F. und I. Ganter:
Eine Methode zur gleichzeitigen Bestimmung des
Gerinnungsablaufes und des Fibrinogens.
Klin. Wschr. 26, 557 (1948)

7) Esser, H. und F. Heinzler:

Eine colorimetrische Fibrinogenbestimmung mit
der Biuret-Reaktion.

Klin. Wschr. 30, 991 (1952)

8) Foster, D. und G. H. Whipple:

Blood fibrin studies. I. An accurate method
for the quantitative analysis of blood fibrin
in small amounts of blood.

Amer. J. Physiol. 58, 365 (1922)

9) Gerok, W.:

Eine Methode zur Mikrobestimmung der Fibrinogen-
konzentration im Blutplasma.

Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem. 291, 129 (1952)

10) Görnitz, H. A.:

Vergleich verschiedener Fibrinogenbestimmungen
in der klinischen Routinediagnostik.

Inaug. Diss. Med. Fak.

Mainz, 1973

11) Gram, H. C.:

A new method for the determination of the fibrin
percentage in blood and plasma.

J. biol. Chem. 49, 279 (1921)

12) Halse, T.:

Colorimetrische Methode zur quantitativen Bestimmung der Fibrinolyse für klinische Serienuntersuchungen.

Klin. Wschr. 27, 226 (1949)

13) Haupt, H., M. Beseke und H. v. Zimmermann:

Untersuchungsgang zur Differenzierung von Blutungsübeln in der Nachgeburtsperiode.

Klin. Wschr. 37, 220 (1959)

14) Hirsch, A. und C. Cattaneo:

Vergleichende Untersuchungen der modernen quantitativen Plasma-Fibrinogen-Bestimmungsmethoden.

Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem. 304, 53 (1956)

15) Jürgens, F. und F. K. Beller:

Klinische Methoden der Blutgerinnungsanalyse.

Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1959

16) v. Kaulla, K. N.:

Die Fraktionierung des menschlichen Plasmas und ihre klinische Bedeutung.

Deut. med. Wschr. 73, 152 (1948)

17) Koller, S.

Neue graphische Tafeln zur Beurteilung statistischer Zahlen.

Darmstadt 1969

18) Marx, R.:

Hämostaseologische Analysen (Gerinnungs- und Fibrinolyseteste) in der derzeitigen Herztherapie.

Ärztl. Lab. 10 254 (1964)

19) Owren, P. A.:

The coagulation of blood; investigations on new clotting factor.

Acta med. Scand., Suppl. 194, pp 1-327 (1947)

20) Paar, D.:

Zuverlässigkeit von Fibrinogenbestimmungen.

Präzision, Richtigkeit und Normalwerte.

Blut 23, 1 (1971)

21) Quick, A. J.:

The hemorrhagic disease and the physiology of hemostasis.

Springfield 1942

22) Rappaport, F. und G. Geiger:

Mikromethoden zur Bestimmung von Eiweiß und seiner Fraktionen im Serum und Plasma ohne Destillation.

Klin. Wschr. 13, 563 (1934)

23) Róka, L.:

Fibrinogenbestimmungen, Indikation und Methode.
Aktuelle Diagnostik, Boehringer Mannheim GmbH

24) Schneider, C. L.:

Rapid estimation of plasma fibrinogen concentration and its use as a guide to therapie of intravascular defibrination.

Amer. J. Obst. Gynec. 64, 141 (1952)

25) Schulz, F. H.:

Das Fibrinogen
Leipzig 1953

26) Schulz, F. H.:

Eine einfache volumetrische Fibrinbestimmung.
Ärztl. Lab. 1, 107 (1955)

27) Simon, B. und J. Schneider:

Vergleichende Untersuchungen zur Genauigkeit des Fibrinogen-Polimerisationszeit-Tests.
Ärztl. Forsch. 24, 234 (1970)

28) Starlinger, W.:

Über die Methodik der quantitativen Bestimmung des Fibrinogens.
Biochem. Zbl. 140, 203 (1923)

29) Svedberg, K. und O. Pedersen

Die Ultrazentrifuge
Dresden und Leipzig 1940

- 30) Vermynen, C., R. A. de Vreker und M. Verstraete:

A rapid method for assay of fibrinogen fibrin polymerization time (FPT-Test).

Clin. chim. Acta 8, 418 (1963)

- 31) Vermynen, C., R. A. de Vreker und M. Verstraete:

Usefulness of and a simple method for serial successive fibrinogen determinations in human pathology.

Thromb. Diath. Haemorrh. 10, 439 (1964)

- 32) Weber, E.:

Grundriß der biologischen Statistik

Stuttgart 1967

- 33) Wuhrmann, F. und H. Leuthardt

Zur klinischen Bedeutung der Bluteiweißkörper

Klin. Wschr. 37, 220 (1959)

- 34) Wuhrmann, F. und C. Wunderly

Die Bluteiweißkörper des Menschen

Basel, Stuttgart 1957

VIII) Anhang

Tab. 1

Einzelwerte (Ew) und Mittelwerte (Mw) pro Proband (Pb) und Methode;
Fibrinogengehalt in mg/100 ml

Pb	Methoden																	
Nr.	Boehringer					Dade						Biuret						
	Ew					Mw	Ew					Mw	Ew					Mw
1.	241	225	259	228	232	237	275	333	233	227	237	261	236	218	207	219	235	223
2.	436	424	432	443		436	423	373	410	405		428	480	410	420	485		449
3.	275	269				273	263	266				265	295	270				283
4.	185	241				214	185	263				224	148	208				178
5.	336	286	311			344	314	254	293			287	311	261	287			253
6.	292	272	255	292	269	276	284	265	261	300	260	275	285	264	271	264	228	262
7.	388	399				393	312	412				362	391	400				396
8.	398	399				399	465	373				419	466	334				400
9.	412	388	305			368	303	312	312			309	352	370	399			374
10.	308	528				418	335	556				445	264	509				387
11.	246	226	215			229	233	234	212			226	212	237	215			221
12.	264	250				257	255	260				257	236	246				241
13.	194	215				204	195	207				201	177	200				189
14.	199	203				201	203	203				203	159	188				174
15.	208	192				200	215	203				209	150	186				168
16.	218	233				225	217	234				225	220	235				228
17.	199	215				207	193	217				205	147	210				179
18.	237	241				239	212	234				223	178	193				185
19.	194	183				188	170	168				169	178	142				160
20.	174	174				174	178	173				175	170	138				154
21.	255	219				237	230	216				223	210	222				216
22.	269	249				259	260	270				265	228	243				235

Tab. 2

Einzelwerte der Fibrinogenbestimmungen im Normbereich pro Proband (Pb) und Methode; Fibrinogengehalt in mg/100 ml

Pb	Methoden		
Nr.	Boehr.	Dade	Biuret
1.	292	245	274
2.	390	284	310
3.	286	245	238
4.	388	312	391
5.	275	263	295
6.	398	312	353
7.	185	185	148
8.	280	239	313
9.	264	303	355
10.	314	299	307
11.	292	284	300
12.	211	203	213
13.	292	269	283
14.	332	335	312
15.	168	150	173
16.	424	373	370
17.	388	314	383
18.	378	269	278
19.	410	335	479
20.	450	373	373
21.	229	218	206
22.	250	218	225
23.	362	275	245
24.	373	387	375
25.	280	278	284
26.	450	414	390
27.	422	414	412
28.	298	347	285
29.	232	223	211
30.	300	335	313
31.	273	265	245
32.	374	393	368
33.	237	233	275
34.	302	279	253
35.	410	312	392
36.	217	214	213
37.	344	372	346
38.	217	231	222
39.	229	230	203

Pb	Methoden		
Nr.	Boehr.	Dade	Biuret
40.	269	268	243
41.	368	390	364
42.	428	390	475
43.	233	223	272
44.	426	390	536
45.	269	257	301
46.	416	390	520
47.	310	392	407
48.	368	345	345
49.	233	218	212
50.	175	191	193
51.	162	207	198
52.	151	204	217
53.	225	223	220
54.	157	196	189
55.	175	232	211
56.	171	193	169
57.	424	373	410
58.	432	410	420
59.	443	405	485
60.	388	312	391
61.	399	402	400
62.	275	263	295
63.	269	266	270
64.	185	185	146
65.	241	263	208
66.	336	314	311
67.	286	254	261
68.	311	293	278
69.	292	284	285
70.	272	265	264
71.	255	261	271
72.	292	300	264
73.	269	260	228
74.	412	303	352
75.	388	312	370
76.	305	312	399
77.	246	233	212

Tab. 3

Einzelwerte der Fibrinogenbestimmungen im hypernormalen Bereich pro Proband (Pb) und Methode; Fibrinogengehalt in mg/100 ml

Pb	Methoden		
Nr.	Boehr.	Dade	Fluoret
1.	549	563	608
2.	512	613	486
3.	487	428	481
4.	459	427	429
5.	457	463	443
6.	528	491	426
7.	381	426	468
8.	529	556	514
9.	584	556	574
10.	548	586	681
11.	560	423	471
12.	560	491	469
13.	672	612	588
14.	452	466	389
15.	437	453	448
16.	518	620	602
17.	456	442	483
18.	482	435	457
19.	467	446	532

Tab. 4

Einzelwerte der Fibrinogenbestimmungen im hyponormalen Bereich in allen Verdünnungsstufen pro Proband und Methode; Fibrinogen-gehalt in mg/100 ml

a) Boehringer

Verd.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
—	233	229	218	239	300	423	233	422	426	259	416	310	215	368	233
1/2	173	106	293	133	239	230	127	237	241	145	176	151	104	166	112
1/4	80	54	132	66	132	112	67	156	164	64	92	75	50	84	50
1/8	32	23	66	30	71	50	25	73	81	30	38	37	26	39	21

b) Dade

Verd.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
—	347	230	323	238	390	390	225	455	390	257	390	392	212	345	213
1/2	208	72	337	138	238	185	133	233	227	138	185	208	100	162	122
1/4	53	44	147	70	88	131	66	127	103	71	94	64	52	85	68
1/8	33	18	71	30	51	53	31	80	48	28	56	32	27	40	32

c) Biuret

Verd.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
—	205	203	602	243	361	475	272	457	390	301	520	407	215	345	212
1/2	146	100	311	126	200	217	108	211	227	143	228	140	100	152	110
1/4	70	61	149	69	94	102	63	90	103	80	103	88	45	80	54
1/8	32	28	73	28	45	67	22	61	48	37	47	35	18	34	22

Lebenslauf

Am 7.11.1942 wurde ich als Sohn des Oberregierungsrates Dr. Karl Schwarz und seiner Ehefrau Anna-Maria, geb. Lorch, in Frankfurt am Main geboren.

Von 1949 bis 1954 besuchte ich in Frankfurt die Volksschule. Durch Versetzungen meines Vaters besuchte ich von 1954 bis 1962 das Eichendorff-Gymnasium in Koblenz, anschließend bis zur Reifeprüfung 1964 das Gutenberg-Gymnasium in Mainz. Im April 1964 trat ich in Koblenz eine Banklehre an, die ich abbrach, um im Wintersemester 1964/65 an der Johannes Gutenberg-Universität in Mainz das Studium der Medizin zu beginnen.

Die Naturwissenschaftliche Vorprüfung legte ich im Wintersemester 1965/66 ab, die Ärztliche Vorprüfung bestand ich im Sommersemester 1968.

Das Medizinische Staatsexamen konnte ich im Dezember 1971 abschließen.

Nach Ablauf der Medizinalassistentenzeiten, die ich zu je sechs Monaten in der 1. Med. Klinik und der Chirurgischen Klinik der Universitätskliniken der Johannes Gutenberg-Universität verbrachte, erwarb ich im März 1973 die Approbation als Arzt.

Vom 1.5.1973 bis zum 31.8.1974 war ich als Wissenschaftlicher Mitarbeiter im Hygieneinstitut der Johann Wolfgang Goethe-Universität in Frankfurt beschäftigt. Seit dem 1.9.1974 bin ich als Wissenschaftlicher Assistent in der 1. Med. Klinik der Johannes Gutenberg-Universität tätig.

Wilfried Schwarz

